

環境庁殿

試 験 報 告 書

1,2,3-トリクロロベンゼンのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

(試験番号: 7 B 7 6 6 G)

1998年4月28日作成

株式会社三菱化学安全科学研究所

本写しは原本と相違ありません

(株)三菱化学安全科学研究所
横浜研究所 運営管理者

修正番号：01

試験報告書 修正書

試験委託者：環境省

表題：1, 2, 3-トリクロロベンゼンのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する
繁殖阻害試験

試験番号：7 B 7 6 6 G

修正内容

修正箇所：15頁 5.2 試験液中の被験物質濃度

修正前：換水前で61～80%であった。

修正後：換水前で33～80%であった。

理由

記載ミスのため

試験実施施設：株式会社三菱化学安全科学研究所 横浜研究所

2002年 3月 8日 作成 試験責任者

(2002年 3月 8日 交替)

2002年 3月 8日 確認 信頼性保証業務担当者

2002年 3月 8日 承認 運営管理者

陳 述 書

株式会社三菱化学安全科学研究所
横浜研究所

試験委託者： 環境庁

表題： 1,2,3-トリクロロベンゼンのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する
急性遊泳阻害試験

試験番号： 7 B 7 4 8 G

本試験は環境庁の G L P 規則に従って実施したものである。

1 9 9 8 年 3 月 3 1 日

運営管理者

[Redacted]

[Redacted]

信 頼 性 保 証 証 明

株式会社三菱化学安全科学研究所
横浜研究所

試験委託者： 環境庁

表題： 1,2,3-トリクロロベンゼンのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する
急性遊泳阻害試験

試験番号： 7 B 7 4 8 G

本試験は試験計画書および標準操作手順書に従って実施され、本報告書には試験に使用した方法、手順が正確に記載されており、試験結果は生データを正確に反映していることを下記の通り確認した。

記

	実施日	運営管理者および 試験責任者への報告日
試験実施状況査察	1998年 2月24日	1998年 2月24日
	1998年 2月26日	1998年 2月26日
試験報告書監査	1998年 3月31日	1998年 3月31日

1998年 3月31日

信頼性保証担当者：

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

試験実施概要

1. 表題： 1,2,3-トリクロロベンゼンのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験
2. 試験目的： 1,2,3-トリクロロベンゼンについて、オオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験を行い、24および48時間後の半数遊泳阻害濃度 (EC50) および最大無作用濃度 (NOECi) を求める。
3. 適用ガイドライン： 本試験は、OECD 化学品テストガイドライン No.202「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験および繁殖試験」(1984年) に準拠した。
4. 適用GLP： 本試験は環境庁のGLP規則に準拠した。
5. 試験委託者
名称： 環境庁
住所： 〒100-8975 東京都千代田区霞が関一丁目2-2
委託担当者： 企画調整局環境保健部環境安全課環境リスク評価室室長補佐 XXXXXXXXXX
6. 試験受託者：
名称： 株式会社三菱化学安全科学研究所
所在地： 〒105-0014 東京都港区芝二丁目1-30
7. 試験施設：
名称： 株式会社三菱化学安全科学研究所 横浜研究所
所在地： 〒227-0033 神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000番地

8. 試験関係者：

試験責任者

[REDACTED]

[REDACTED]

(1998年 3月31日)

試験担当者

[REDACTED]

[REDACTED]

(1998年 3月31日)

[REDACTED]

[REDACTED]

(1998年 3月31日)

[REDACTED]

[REDACTED]

(1998年 3月31日)

[REDACTED]

[REDACTED]

(1998年 3月31日)

[REDACTED]

[REDACTED]

(1998年 3月31日)

分析担当者

[REDACTED]

[REDACTED]

(1998年 3月31日)

9. 試験期間： 試験開始日

1997年12月16日

試験終了日

1998年 3月31日

暴露期間

1998年 2月24日～1998年 2月26日

10. 保管：

試験に関する下記の記録および試資料は，試験報告書作成後10年間，当研究所試資料保管施設に保管する。その後の保管については別途協議の上定める。

- 1) 試験計画書，同変更の記録
- 2) 試験報告書
- 3) 生データ
- 4) 信頼性保証業務担当者の監査・査察記録
- 5) 被験物質
- 6) その他必要なもの

目 次

	頁
要 旨	7
1 被験物質	9
1.1 名称, 構造式および物理化学的性状	9
1.2 供試試料	9
1.3 被験物質の確認および保管条件下での安定性	10
2 供試生物	10
3 試験方法	11
3.1 試験条件	11
3.2 希釈水	11
3.3 試験容器および恒温槽等	11
3.4 試験濃度の設定	11
3.5 試験液の調製	12
3.6 試験液の分析	12
3.7 試験操作	12
4 結果の算出	14
4.1 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) の算出	14
4.2 50%繁殖阻害濃度 (EC50) の算出	14
4.3 最大無作用濃度 (NOEC)および最小作用濃度 (LOEC)	14
5 結果および考察	15
5.1 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	15
5.2 試験液中の被験物質濃度	15
5.3 ミジンコの観察結果	15
5.4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)	16
5.5 50%繁殖阻害濃度 (EC50)	16
5.6 累積産仔数に及ぼす最大無作用濃度 (NOEC)および最小作用濃度 (LOEC)	16
5.7 試験水の水溫, 溶存酸素濃度, pH および硬度	17
Table 1~11	18~26
Figure 1,2	20,22
付属資料-1 希釈水の水質	27~28
付属資料-2 試験液の分析方法	29~35
付属資料-3 ミジンコの観察結果	36~43

要 旨

試験委託者

環境庁

表 題

1,2,3-トリクロロベンゼンのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

試験番号

7 B 7 6 6 G

試験方法

本試験は、OECD 化学品テストガイドライン No.202「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験および繁殖試験」(1984年4月採択)の改訂版であるガイドライン No.211「オオミジンコ繁殖試験」(1997年4月提案)に準拠して実施した。

- 1)被験物質： 1,2,3-トリクロロベンゼン
- 2)暴露方式： 半止水式(週に3回、試験液の全量を交換)
- 3)供試生物： オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4)暴露期間： 21日間
- 5)試験濃度(設定値)： 対照区, 助剤対照区, 0.020, 0.045, 0.100, 0.220, 0.500 mg/L
(公比 2.2, 助剤濃度一定: 20 mg/L, HCO-40 および DMF使用)
- 6)試験液量： 1 容器(連)につき 80 mL
- 7)連数： 10容器(連)／濃度区
- 8)供試生物数： 10頭／濃度区 (1 連につき 1 頭)
- 9)試験温度： 20±1℃
- 10)照明： 16時間明／8時間暗
- 11)被験物質の分析： HPLC法

結 果

1)試験液中の被験物質濃度

暴露期間中に測定した試験液の被験物質濃度が、設定値の±20%を越えたため、各影響濃度の算出には実測値（時間加重平均値）を採用した。

2)21 日間の親ミジンコの半数致死濃度（LC50）：

0.280 mg/L（95%信頼限界：0.167～0.392 mg/L）

3)21 日間の 50% 繁殖阻害濃度（EC50）：

>0.392 mg/L

0.167mg/L では阻害率 0%以下で、0.392 mg/L では親が 9 頭死亡し、かつ生存した 1 頭の親の繁殖阻害率が 42.2%であったため、50%繁殖阻害濃度（EC50）は、>0.392 mg/L と表示した。しかしながら、この濃度では明らかに親に対して長期影響があるものと判断した。

4)21 日間の最大無作用濃度（NOEC）：

0.167 mg/L

5)21 日間の最小作用濃度（LOEC）：

0.392 mg/L

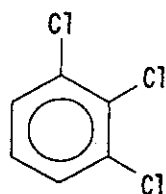
1 被験物質

1.1 名称，構造式および物理化学的性状

名 称： 1,2,3-トリクロロベンゼン
(略称 1,2,3-TCB)

CAS No： 87-61-6

構造式：



分子式： $C_6H_3Cl_3$

分子量^{*1}： 181.44

沸点^{*1}： 221°C

融点^{*1}： 53.7°C

水溶解度^{*1}： 12mg/L (22°C)

logPow^{*1}： 4.02~4.11

*1:供給者提供資料

*2:環境化学物質要覧－環境庁環境化学物質研究会編，丸善（昭和63年）

1.2 供試試料

純度^{*1}： 100.0%

ロット番号^{*1}： TPG3364

供給者： XXXXXXXXXX

供給量^{*1}： 25g

入手日： 1997年12月8日

外観^{*1}： くすんだ白色塊

*1:供給者提供資料

1.3 被験物質の確認および保管条件下での安定性

被験物質は当研究所の冷蔵庫に保管した。

入手した被験物質の赤外吸収スペクトルを測定し、被験物質の構造と矛盾が認められないことを確認した。試験終了時にも赤外吸収スペクトルを測定し、試験開始前に測定したスペクトルと比較した。その結果、スペクトルに変化はなかったことより被験物質は保管中は安定であったと判断された。

2 供試生物

試験には生後24時間令以内のオオミジンコ(*Daphnia magna*)の幼体を用いた。

本種は、1995年7月18日に国立環境研究所より入手したものを、当研究所において継代飼育しているものである。また、基準物質（重クロム酸カリウム、試薬特級）による48時間の半数遊泳阻害濃度 (EiC50) は 0.23 mg/L であった。

供試する幼体を得るためのミジンコの飼育方法

継代中のものから幼体を抱えた肉眼的に健康かつ十分な大きさの雌成体を選別し、別に用意したビーカーに移し、翌日、産出された幼体を別のビーカーに分けた。この幼体(1998年 2月25日生まれ)を供試ミジンコの親とし、以下の条件で飼育した。成熟し幼体を産むようになったら1週間に少なくとも3回幼体を除去した。暴露開始前日に、育房内に幼体を持つ雌成体を選別し、翌日(24時間以内)産出された幼体を試験に用いた(1998年 3月18日暴露開始)。暴露開始前2週間の死亡率は5%以下で休眠卵および雄は発生しなかった。

1)飼育水: 希釈水 (3.2参照)

2)飼育密度: 幼体 40または35 頭/3L 飼育水
成体 35 頭/3L 飼育水

3)水温: 20±1°C

4)照明: 室内光, 16時間明 (1200lux以下) / 8時間暗

5)餌: *Chlorella vulgaris*

6)給餌量: ミジンコ 1頭当たり 0.15 mgC (有機炭素含量) / 日

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 暴露方式： 半止水式(週に3回, 試験液の全量を交換)
- 2) 暴露期間： 21 日間
- 3) 試験液量： 1 容器(連)に付き 80 mL
- 4) 連数： 10 容器(連) / 濃度区
- 5) 供試生物数： 10 頭 / 濃度区 (1 連に付き 1 頭)
- 6) 試験温度： 20±1℃
- 7) 照明： 室内光, 16 時間明 (1200lux 以下) / 8 時間暗
- 8) 餌： *Chlorella vulgaris*
- 9) 給餌量： ミジンコ 1 頭当たり 0.15 mgC (有機炭素含量) / 日

3.2 希釈水

脱塩素水(横浜市水道水を活性炭処理し, 残留塩素等を除去した後, 充分通気したもの)を使用した。希釈水の硬度は 63 mg/L (CaCO₃換算), pH は 8.1 であった。

[付属資料-1]

3.3 試験容器および恒温槽等

- 1) 試験容器： 100 mL 容ガラスビーカー, 密閉用テフロンシート製蓋
- 2) 恒温槽： PVC 製水槽 (恒温装置 TAITEC 製 COOLNIT CL-80F 型)
- 3) 水温計： 横河電機製 2455 02 型
- 4) 溶存酸素計： 電気化学計器製 DOL-10 型
- 5) pH 計： 東亜電波工業製 HM-40V 型
- 6) 硬度： 全硬度測定キット (Titrets No.K-4520)

3.4 試験濃度の設定

オオミジンコに対する48時間急性遊泳阻害試験の結果(48hr-EC50値: 0.458 mg/L)から, 本試験は公比 2.2 で5段階を設定した。各濃度区は以下の通りである。

対照区, 助剤対照区, 0.020, 0.045, 0.100, 0.220, 0.500 mg/L
(被験物質の分析における定量限界を0.001mg/Lとしたため, 設定濃度の最小桁表示も小数点以下3桁とした。)

3.5 試験液の調製

被験物質 100 mg を秤取して、DMF 2000 mg に溶解させ、HCO-40 2000 mg を添加後さらに攪はん・混合した。これを純水で希釈し 100 mL に定容とし、被験物質濃度 1000 mg/L の原液を調製した。同時に被験物質を含まない助剤原液 4000 mg/L (DMF 2000 mg/L, HCO-40 2000 mg/L) を調製した。

1.0 L 容のメスフラスコに希釈水を入れ、助剤濃度が一定 (20 mg/L) になるように助剤原液を加え、上記被験物質原液を各濃度に応じて添加した後 1000 mL に定容とし、各試験液を調製した。1 濃度区に付き 10 個の試験容器に 80 mL ずつ分注して、試験に用いた。

助剤対照区には、被験物質を含まないもの (助剤濃度 : 20 mg/L) を調製した。

対照区には、希釈水のみを用いた。

3.6 試験液の分析

全濃度区 (但し、各 1 試験容器) について、暴露期間中に 4 回、換水前後に 0.75 mL ずつ試験液を採取し、アセトニトリルを等量添加後、HPLC により分析した。アセトニトリルで調製した標準溶液 (0.200 mg/L) は、等量の水で希釈したものを HPLC 測定試料とした。各試験液の被験物質濃度は、標準溶液のピーク面積との比から定量した。

詳細は付属資料-2 に示した。

3.7 試験操作

試験液の水溫、溶存酸素濃度 (D.O.) , pH および硬度を測定後、ガラスピペットを用いて供試ミジンコを投入し、その時点を暴露開始時とした。その際、ピペット内の飼育水が、全量で試験液量に対して 1 % 以内となるようにした。その後、換水毎にミジンコを新しい試験液に移しかえ、21 日後まで飼育した。暴露期間中は毎日一定量の給餌を行った (3.1 参照)。

・ミジンコの観察：

（親ミジンコ）生死，遊泳状態および外観の異常の有無を毎日観察して，記録した。計数後の死亡個体は取り除いた。

（産出幼体） 最初の産仔から毎日幼体の生存数を計数し，計数後の幼体は取り除いた。死亡幼体，墮胎卵および休眠卵の発生等については，その有無を毎日観察し記録した。最初の幼体産出日を，初産日として記録した。

・水質測定： 水温，溶存酸素濃度(D.O.)，pHおよび硬度を，全濃度区（但し，各1試験容器）について，暴露期間中に4回，換水前後に測定した。

4.1 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) の算出

各濃度区での親ミジンコの死亡数と供試個体数 (10頭) を用いて, Binomial法, Moving average法またはProbit法の何れか適切な統計手法により, 21日間の半数致死濃度 (LC50) を算出し, 可能な限りその95%信頼限界を算出した。最高濃度区においても50%以上の死亡が認められなかった場合は, LC50を最高濃度区以上と表記した。

4.2 50%繁殖阻害濃度 (EC50) の算出

各濃度区での生存親1頭当たりの平均累積産仔数 (生存幼体) から阻害率を求め, Logit法 (Yukms 統計ライブラリー「生物検定編 Ver.5.0」 (Yukms Corp., 東京) により, 50%繁殖阻害濃度 (EC50) を算出し, 可能な限りその95%信頼限界を算出した。最高濃度区においても累積産仔数に及ぼす50%以上の阻害が認められなかった場合は, EC50を最高濃度区以上と表記した。

4.3 最大無作用濃度 (NOEC) および最小作用濃度 (LOEC)

各濃度区の容器毎に21日間生存した親1頭当たりの累積産仔数を算出し, 各濃度区と助剤対照区との有意差の有無を以下の統計手法により求めた。有意差が認められない最高濃度を最大無作用濃度 (NOEC), 有意差が認められる最低濃度を最小作用濃度 (LOEC) とした。

統計手法: Bartlettの等分散検定, 一元配置分散分析 (1-way ANOVA), DunnettまたはWilliamsの多重比較検定 ($\alpha=0.05$, 両側)

統計解析には, Yukms ソフトウェア Statlight「#4 多群の比較」 (Yukms Corp., 東京) を用いた。

5 結果および考察

5.1 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

該当する事象はなかった。

5.2 試験液中の被験物質濃度

試験液調製時の濃度は 0.018~0.469 mg/L (設定値 0.020~0.500 mg/L) であり、換水前の濃度は 0.014~0.397 mg/L であった。また、各濃度区の被験物質実測濃度の設定値に対する割合は調製時で 82~95%、換水前で 61~80% であった。

したがって、暴露期間中に測定した試験液の被験物質濃度が、設定値の±20%を越えたため、各影響濃度の算出には実測値(時間加重平均値)を採用した。

[Table 1 (p.18), 付属資料-2]

5.3 ミジンコの観察結果

親ミジンコの死亡数および死亡率

対照区および助剤対照区での親ミジンコの死亡率は暴露終了時で 10%および 0%であり、試験成立条件である20%以下の基準を満たした。

暴露終了時の親ミジンコの死亡率は 0.020, 0.045, 0.100 および 0.220mg/L 区で 0%, 0.500 mg/L 区で 90%であった。0.500 mg/L 区では 14 日目以降徐々に死亡していき、21 日間で 1 頭のみが生存したが、暴露を延長すれば死亡した可能性は高いと思われる。

[Table 2-1, 2-2 (p.19), Figure 1 (p.20) 付属資料-3]

初産日

対照区での親ミジンコの初産日は暴露開始 7~8 日後、助剤対照区では全例とも暴露開始 7 日後であった。

各濃度区における親ミジンコの初産日は、0.020 および 0.100 mg/L 区で対照区同様暴露開始 7~8 日後、0.045 および 0.220 mg/L 区で 7~10 日後、0.500 mg/L 区では 8~10 日後であった。

[Table 3 (p.21), 付属資料-3]

5 結果および考察

5.1 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

該当する事象はなかった。

5.2 試験液中の被験物質濃度

試験液調製時の濃度は 0.018～0.469 mg/L（設定値 0.020～0.500 mg/L）であり，換水前の濃度は 0.014～0.397 mg/L であった。また，各濃度区の被験物質実測濃度の設定値に対する割合は調製時で 82～95%，換水前で 33～80% であった。

したがって，暴露期間中に測定した試験液の被験物質濃度が，設定値の±20%を越えたため，各影響濃度の算出には実測値（時間加重平均値）を採用した。

[Table 1 (p.18), 付属資料－2]

5.3 ミジンコの観察結果

親ミジンコの死亡数および死亡率

対照区および助剤対照区での親ミジンコの死亡率は暴露終了時で 10% および 0% であり，試験成立条件である 20% 以下の基準を満たした。

暴露終了時の親ミジンコの死亡率は 0.020，0.045，0.100 および 0.220mg/L 区で 0%，0.500 mg/L 区で 90% であった。0.500 mg/L 区では 14 日目以降徐々に死亡していき，21 日間で 1 頭のみが生存したが，暴露を延長すれば死亡した可能性は高いと思われる。

[Table 2-1, 2-2 (p.19), Figure 1 (p.20) 付属資料－3]

初産日

対照区での親ミジンコの初産日は暴露開始 7～8 日後，助剤対照区では全例とも暴露開始 7 日後であった。

各濃度区における親ミジンコの初産日は，0.020 および 0.100 mg/L 区で対照区同様暴露開始 7～8 日後，0.045 および 0.220 mg/L 区で 7～10 日後，0.500 mg/L 区では 8～10 日後であった。

[Table 3 (p.21), 付属資料－3]

平均累積産仔数

対照区および助剤対照区の21日間での親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数は88頭および102頭であり、試験成立条件である平均累積産仔数60頭の基準を満たした。

各濃度区における21日間での親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数は、0.020 mg/L区で94頭、0.045 mg/L区で111頭、0.100 mg/L区で108頭、0.220mg/L区で105頭であった。0.500 mg/L区では21日間生存した親は1頭のみでその累積産仔数は59頭であった。しかし、死亡したその他の親も暴露期間中に最大で64頭まで幼体を産出した。したがって、この濃度区では、ある程度幼体を産出するものの、親に対して長期影響があるものと判断した。

[Table 4 (p.22), Figure 2 (p.22) 付属資料-3]

休眠卵の発生等

全暴露期間を通して、対照区および全濃度区において休眠卵の発生は認められなかった。

5.4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)

21日間暴露の親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) は 0.280 mg/Lで、その95%信頼限界は 0.167~0.392 mg/Lであった。

[Table 5 (p.23)]

5.5 50%繁殖阻害濃度 (EC50)

0.167mg/L (測定値) では阻害率0%以下で、0.392 mg/L (測定値) では親が9頭死亡し、かつ生存した1頭の親の繁殖阻害率が42.2%であったため、21日間暴露の50%繁殖阻害濃度 (EC50) は、>0.392 mg/Lと表示した。しかしながら、前述したように、この濃度では明らかに親に対して長期影響があるものと判断した。

[Table 6 (p.23)]

5.6 累積産仔数に及ぼす最大無作用濃度 (NOEC)および最小作用濃度 (LOEC)

統計解析の結果および親の死亡率からも判断して、親ミジンコ1頭あたりの累積産仔数に及ぼす21日間暴露の最大無作用濃度 (NOEC)は 0.167 mg/L で、最小作用濃度 (LOEC)は 0.392 mg/L であると結論した。

[Table 7 (p.24)]

5.7 試験水の水温，溶存酸素濃度，pH および硬度

21日間の暴露期間中の水温は 19.7～20.9 °Cであり，設定範囲内であった。

溶存酸素濃度は 7.0～8.6 mg/Lであり，全ての濃度区で飽和溶存酸素濃度の60%以上が維持された（20.0℃水中の飽和溶存酸素濃度： 8.8 mg/L）。

pHは 7.1～8.0 ，硬度は，50～70 mg/Lであった。

以上のことから，水温，溶存酸素濃度，pH および硬度は，ミジンコの成育条件として適切な範囲内であったと思われる。

[Table 8 (p.25), Table 9 (p.25), Table 10 (p.26), Table 11 (p.26)]

以 上

Table 1-1 Measured Concentrations of the Test Substance during a 21-day Exposure of *Daphnia magna* under the Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Date→	Measured Concentration (mg/L)								Time-weighted Mean during 21 days (mg/L)	% of Nominal
		0 new	2 old	7 new	9 old	16 new	19 old	19 new	21 old		
Control		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	-	-
Solvent control		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	-	-
0.020		0.019	0.014	0.018	0.015	0.018	0.014	0.019	0.015	0.016	80
0.045		0.041	0.031	0.040	0.015	0.041	0.032	0.039	0.036	0.034	76
0.100		0.090	0.072	0.094	0.074	0.090	0.072	0.090	0.077	0.082	82
0.220		0.181	0.143	0.191	0.152	0.184	0.148	0.190	0.154	0.167	76
0.500		0.431	0.360	0.469	0.397	0.428	0.307	0.436	0.387	0.392	78

Table 1-2 Measured Concentrations as a Percentage of Nominal

Nominal Concentration (mg/L)	Date→	Measured Concentration as a Percentage of Nominal (%)							
		0 new	2 old	7 new	9 old	16 new	19 old	19 new	21 old
0.020		95	70	90	75	90	70	95	75
0.045		91	69	89	33	91	71	87	80
0.100		90	72	94	74	90	72	90	77
0.220		82	65	87	69	84	67	86	70
0.500		86	72	94	79	86	61	87	77

new: freshly prepared test solution
old: old test solution before renewal

	Concentration (mg/L)			% of Nominal		
	Min.		Max.	Min.		Max.
New	0.018	~	0.469	82	~	95
Old	0.014	~	0.397	33	~	80

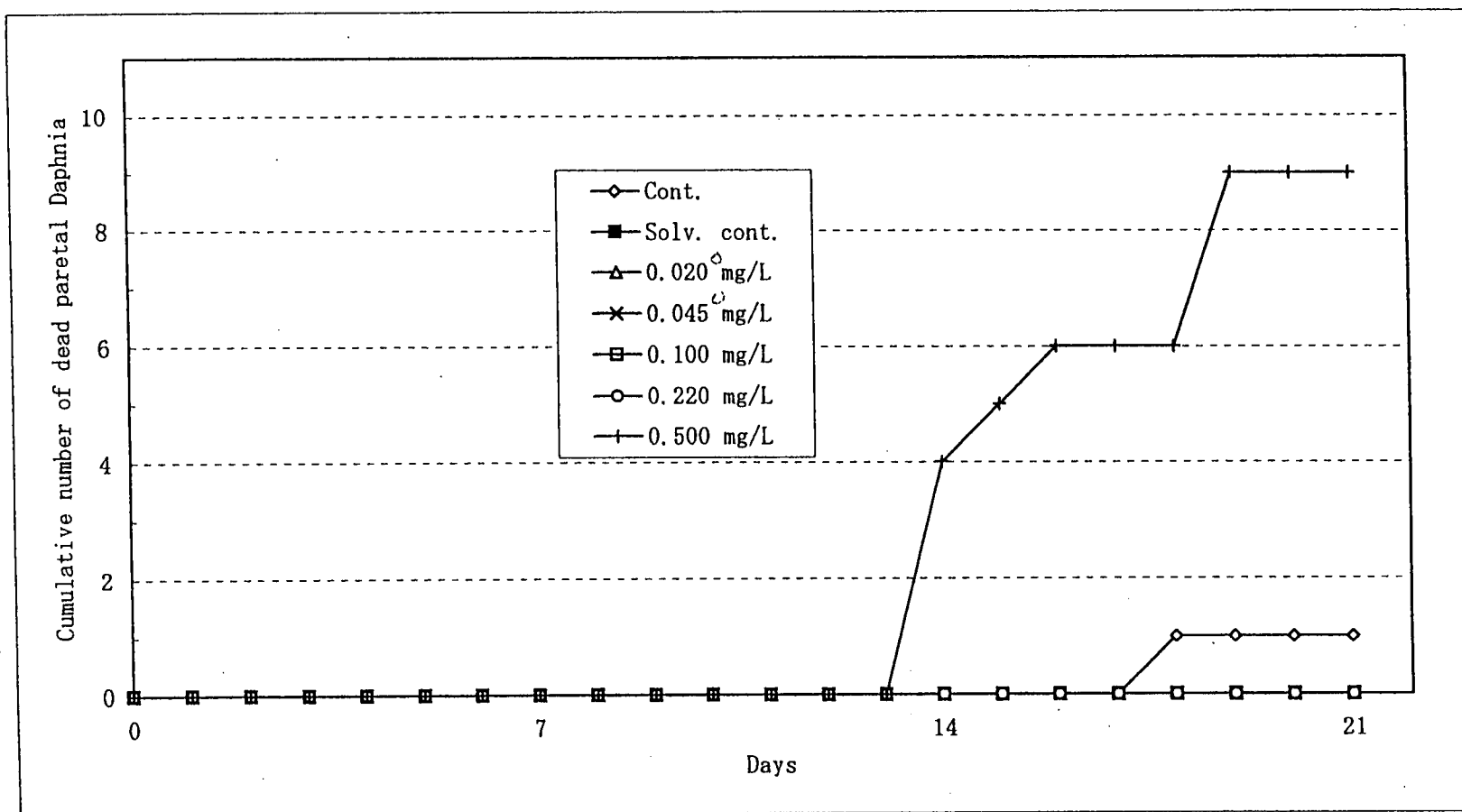
Table 2-1 Cumulative Number of Dead Parental *Daphnia*

Nominal conc.	Days																					
(mg/L)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
Solv. cont.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.020	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.045	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.220	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5	6	6	6	9	9	9

Table 2-2 Mortality (%) of Parental *Daphnia*

Nominal conc.	Days					
(mg/L)	1	2	4	7	14	21
Control	0	0	0	0	0	10
Solv. cont.	0	0	0	0	0	0
0.020	0	0	0	0	0	0
0.045	0	0	0	0	0	0
0.100	0	0	0	0	0	0
0.220	0	0	0	0	0	0
0.500	0	0	0	0	40	90

Figure 1 Cumulative Numbers of Dead Parental *Daphnia*



Values in legend are given in the nominal concentration.

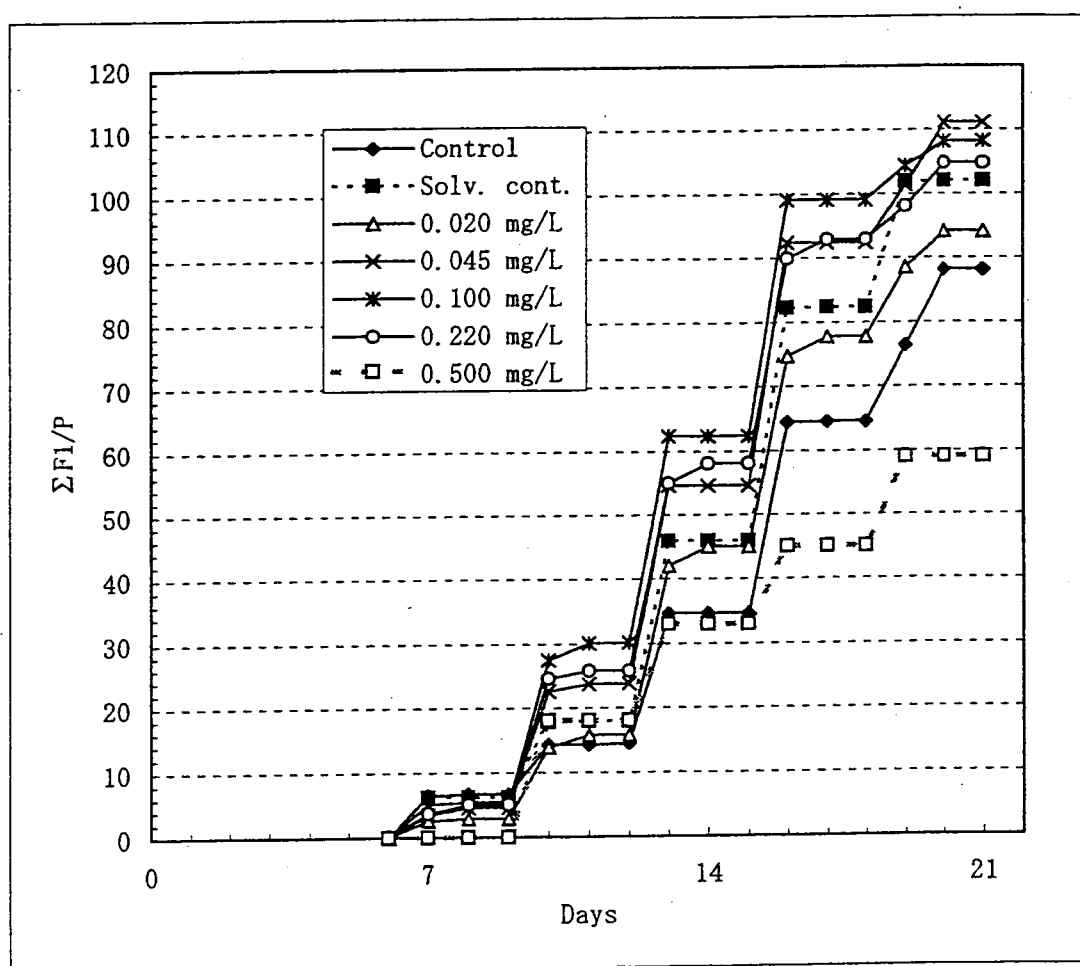
Table 3 Time (Days) to First Brood Production

Vessel No.	Nominal Concentration (mg/L)						
	Control	Solvent control	0.020	0.045	0.100	0.220	0.500
1	7	7	7	7	7	7	9
2	7	7	7	8	7	7	8
3	7	7	7	7	7	7	8
4	7	7	7	7	8	7	8
5	7	7	7	7	7	7	8
6	7	7	7	7	7	8	8
7	8	7	7	7	7	8	8
8	7	7	7	10	7	10	10
9	7	7	7	7	7	7	8
10	7	7	8	8	7	8	8
Min	7	7	7	7	7	7	8
Max	8	7	8	10	8	10	10

Table 4 Mean Cumulative Numbers of Juveniles Produced per Adult Alive for 21 Days ($\Sigma F1/P$)

Nominal Conc.	Days																
	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Control	0.0	6.4	6.7	6.7	14.2	14.2	14.4	34.7	34.7	34.7	64.4	64.6	64.6	76.3	88.1	88.1	
Solv. cont.	0.0	6.2	6.2	6.2	17.8	17.9	17.9	45.9	45.9	45.9	82.3	82.4	82.4	101.9	102.0	102.0	
0.020 mg/L	0.0	2.6	2.9	2.9	13.8	15.7	15.7	42.0	45.0	45.0	74.7	77.8	77.8	88.5	94.1	94.1	
0.045 mg/L	0.0	3.5	4.6	4.6	22.6	23.7	23.8	54.6	54.6	54.6	92.4	92.4	92.4	101.4	111.1	111.1	
0.100 mg/L	0.0	5.1	5.5	5.5	27.5	30.1	30.2	62.3	62.3	62.3	99.1	99.1	99.1	104.4	108.1	108.2	
0.220 mg/L	0.0	3.7	5.1	5.1	24.6	25.8	25.8	55.0	58.1	58.1	89.9	92.9	92.9	98.1	104.8	104.8	
0.500 mg/L	0.0	0.0	0.0	0.0	18.0	18.0	18.0	33.0	33.0	33.0	45.0	45.0	45.0	59.0	59.0	59.0	

Figure 2 Time Course of $\Sigma F1/P$ for Each Concentration Level



Values in legend are given in the nominal concentration.

Table 5 Calculated LC50 Values for Parental *Daphnia*

Exposure Period (day)	LC50 ^{*1} (mg/L)	95% Confidence limits (mg/L)			Statistical method
21	0.280	0.167	—	0.392	Binomial

Table 6 Calculated EC50 Values for Inhibition of Reproduction

Exposure Period (day)	EC50 ^{*1} (mg/L)	95% Confidence limits (mg/L)		Statistical method
21	> 0.392 ^{*2}	—		—

*1: Based on the time-weighted mean measured concentration

*2: We concluded that this concentration level showed adverse effect on P generation, although the reproduction inhibition rate could not be clearly determined.

Table 7 Cumulative Numbers of Juveniles Produced per Adult Alive for 21 Days in Each Test Vessels and Results of Statistical Comparison of the Mean Values (Dunnett's Multicomparison Test)

Vessel No.	Nominal Concentration, mg/L (Measured Concentration ^{*1} , mg/L)						
	Control	Solv. cont.	0.020 (0.016)	0.045 (0.034)	0.100 (0.082)	0.220 (0.167)	0.500 (0.392)
1	76	108	110	102	109	83	D
2	82	101	88	126	92	117	D
3	107	85	107	104	108	102	D
4	88	95	72	114	125	99	D
5	98	115	106	119	113	109	D
6	63	103	86	119	96	130	D
7	D	98	90	104	114	113	D
8	101	94	91	91	114	78	59 ^{*2}
9	80	115	89	116	101	98	D
10	98	106	102	116	110	119	D
Mean	88.1	102.0	94.1	111.1	108.2	104.8	59 ^{*3}
S.D.	14.1	9.5	11.9	10.5	9.7	16.2	
Inhibition rate(%)			7.7	-8.9	-6.1	-2.7	42.2 ^{*3}
Significant difference			-	-	-	-	++

*1: Time-weighted mean measured concentration.

*2: Judging from the results of parental mortality, we concluded that this adult might die if the test period was prolonged.

*3: We concluded that this concentration level showed adverse effect on P generation.

D: Were not included for calculation because the parental *Daphnia* was dead during a 21-days testing period.

-: Indicates no significant difference.

*: Indicates a significant difference ($\alpha=0.05$) from the solvent control. (There was no sign in this test.)

++: Statistical comparison test could not be performed for this concentration because adult alive after 21 days was one. However, we concluded that this concentration level showed adverse effect on *Daphnia* reproduction.

No Observed Effect Concentration (NOEC): 0.167 mg/L

Lowest Observed Effect Concentration (LOEC): 0.392 mg/L

Table 8 Temperature during a 21-day Daphnia Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

Nominal Concentration (mg/L)	Date→	Temperature (°C)								Min.	Max.
		0 new	2 old	7 new	9 old	9 new	12 old	19 new	21 old		
Control		19.8	20.1	19.9	20.0	20.1	20.2	20.1	20.6	19.8	20.6
Solvent control		20.0	20.1	20.0	20.0	20.2	19.9	20.2	20.8	19.9	20.8
0.020		19.7	20.1	20.0	20.0	20.2	20.0	20.3	20.8	19.7	20.8
0.045		19.8	20.1	20.0	20.0	20.2	20.1	20.3	20.9	19.8	20.9
0.100		19.7	20.1	20.2	20.0	20.1	20.1	20.1	20.5	19.7	20.5
0.220		19.7	20.2	20.0	20.1	20.0	20.0	20.2	20.6	19.7	20.6
0.500		19.7	20.2	20.1	20.1	20.1	20.1	20.1	20.6	19.7	20.6
Total										19.7	20.9

new: freshly prepared test solution, old: old test solution before renewal

Table 9 Dissolved Oxygen Concentration (D.O.) during a 21-day Daphnia Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

Nominal Concentration (mg/L)	Date→	D.O. (mg/L)								Min.	Max.
		0 new	2 old	7 new	9 old	9 new	12 old	19 new	21 old		
Control		8.4	8.5	8.6	8.2	8.6	8.1	8.3	7.7	7.7	8.6
Solvent control		8.4	8.3	8.4	7.9	8.5	7.9	8.1	7.4	7.4	8.5
0.020		8.2	8.3	8.4	7.6	8.3	7.4	8.2	7.2	7.2	8.4
0.045		8.4	8.2	8.3	7.6	8.4	7.5	8.1	7.0	7.0	8.4
0.100		8.3	8.2	8.4	7.5	8.4	7.4	8.3	7.1	7.1	8.4
0.220		8.3	8.4	8.5	7.9	8.4	7.7	8.1	7.5	7.5	8.5
0.500		8.3	8.5	8.3	8.0	8.4	7.9	8.0	8.0	7.9	8.5
Total										7.0	8.6

new: freshly prepared test solution, old: old test solution before renewal

Table 10 pH during a 21-day Daphnia Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

Nominal Concentration (mg/L)	Date→	pH								Min.	Max.
		0 new	2 old	7 new	9 old	9 new	12 old	19 new	21 old		
Control		7.9	7.8	7.8	7.5	7.9	7.3	7.8	7.2	7.2	7.9
Solvent control		7.9	7.7	7.7	7.4	7.9	7.3	7.9	7.2	7.2	7.9
0.020		7.9	7.7	7.8	7.4	7.9	7.2	7.9	7.1	7.1	7.9
0.045		7.9	7.7	7.8	7.4	7.9	7.2	7.8	7.1	7.1	7.9
0.100		7.9	7.7	7.8	7.3	7.9	7.2	7.8	7.1	7.1	7.9
0.220		7.9	7.7	7.9	7.4	7.9	7.3	7.9	7.2	7.2	7.9
0.500		8.0	7.8	7.8	7.5	7.9	7.3	7.8	7.3	7.3	8.0
Total										7.1	8.0

new: freshly prepared test solution, old: old test solution before renewal

Table 11 Total Hardness (as CaCO₃) during a 21-day Daphnia Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

Nominal Concentration (mg/L)	Date→	Total hardness (as CaCO ₃ , mg/L)								Min.	Max.
		0 new	2 old	7 new	9 old	9 new	12 old	19 new	21 old		
Control		68	65	65	65	70	60	60	55	55	70
Solvent control		54	59	60	60	65	60	58	51	51	65
0.020		59	58	60	69	65	60	58	58	58	69
0.045		58	60	60	60	58	56	58	53	53	60
0.100		70	58	60	61	58	56	52	61	52	70
0.220		64	55	53	50	54	65	55	63	50	65
0.500		67	58	58	63	64	60	55	61	55	67
Total										50	70

new: freshly prepared test solution, old: old test solution before renewal

付属資料－ 1

希釈水の水質

Appendix 1 Water Quality of Dilution Water

Parameter	Concentration
COD	1 mg/L
Total phosphorus	0.01 mg/L
pH	8.1 (22°C)
Coliform group bacteria	N.D.
Mercury	<0.0001 mg/L
Copper	0.0006 mg/L
Cadmium	<0.001 mg/L
Zinc	0.02 mg/L
Lead	<0.01 mg/L
Aluminium	0.03 mg/L
Nickel	<0.01 mg/L
Chromium	<0.005 mg/L
Manganese	<0.1 mg/L
Tin	<0.1 mg/L
Iron	<0.1 mg/L
Cyanide	N.D.
Free chlorine	<0.01 mg/L
Bromide	<0.05 mg/L
Fluoride	0.09 mg/L
Sulfide	<0.03 mg/L
Total ammonium	<0.05 mg/L
Arsenic	<0.005 mg/L
Selenium	<0.005 mg/L
Evaporation residue	130 mg/L
Electric conductivity	180 μ S/cm
Total hardness (as CaCO ₃)	63 mg/L
Alkalinity	45 mg/L
Sodium	12 mg/L
Potassium	1.3 mg/L
Calcium	18 mg/L
Magnesium	4.9 mg/L

measured date: February 3, 1998

付属資料－ 2

試験液の分析方法

試験液の分析方法

1 試験液の分析方法

各試験液 0.75 mLを測定用バイアルに採取し、アセトニトリル 0.75 mLを加え混合し、HPLCにより分析した。アセトニトリルで調製した標準溶液 (0.20 mg/L) は、等量の水で希釈したものを HPLC測定試料とした。各試験液の被験物質濃度は、標準溶液のピーク面積との比から定量した。

2 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 測定条件

(装置)

高速液体クロマトグラフ： 日立製作所製 L-7000 型 (No. 1)
ワークステーション： Windows NT および D-7000 型 HPLC システム
パソコン： COMPAQ PROLINEA 590, ディスプレイ; 171FS
プリンター： キヤノン製 LASER SHOT LBP-A404F
ポンプ： L-7100 型 (2 台)
カラムオープン： L-7300 型
オートサンブラ： L-7200 型
検出器： L-7400 型
データ処理装置： D-7000 型

(条件)

カラム： Inertsil ODS-3V, 5 μ m, 4.6 x150 mm (GL Sciences Inc.)
溶離液： Acetonitrile 70 %, Water 30 %
流速： 1.0 mL/min
測定波長： 220 nm
試料注入量： 300 μ L
カラム温度： 50 $^{\circ}$ C

3 検量線

被験物質の1000 mg/L アセトニトリル溶液を調製し、順次、アセトニトリルで希釈し0, 0.010, 0.020, 0.050, 0.100, 0.200, 0.500, 1.00 mg/Lの標準溶液を調製した。この標準溶液を一定量採取し水で等量希釈したものをH P L C測定試料とした。横軸に濃度を (mg/L) , 縦軸にピーク面積 (count表示) をとり、検量線を作成した。検量線の最小二乗法による直線回帰式の相関係数は、1.000と良好であった。

4 検出限界

最小検出ピーク面積を 500 countに設定し、これに相当する試験液中の被験物質濃度 0.001 mg/Lを検出限界とした。

5 添加回収試験

H P L C直接注入法のため添加回収試験は実施しなかった。

Figure A-2-1 Calibration Curve by HPLC Analysis

Input Data		
No	Concentration (mg/L)	Peak Area (count)
0	0	0
1	0.010	4,774
2	0.020	11,808
3	0.050	26,028
4	0.100	49,163
5	0.200	96,616
6	0.500	243,723
7	1.000	478,018

$$Y = 480,000X$$

$$r = 1.000$$

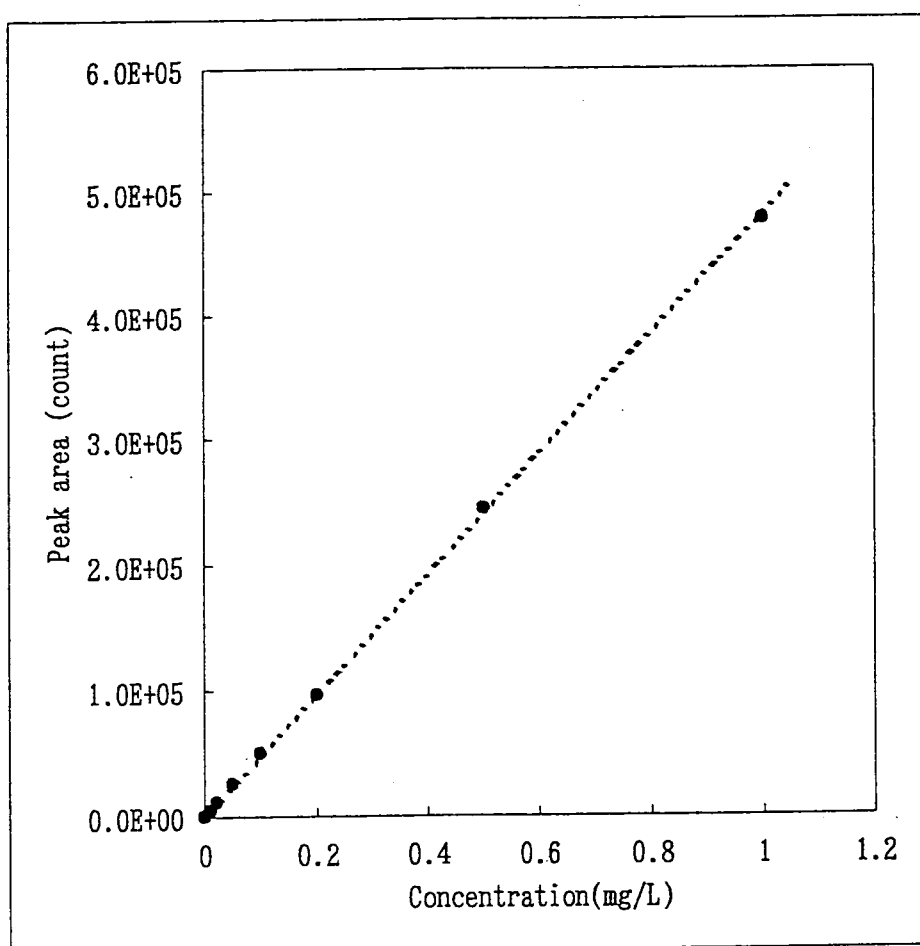
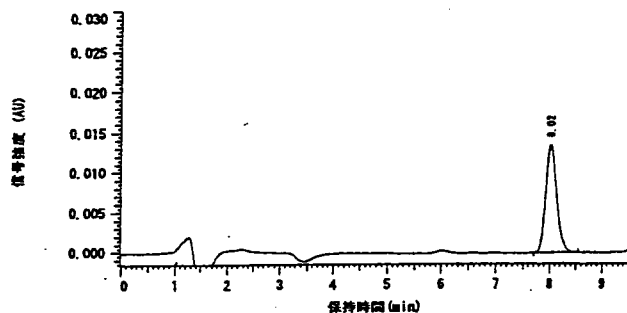


Figure A-2-2 Representative Chromatograms

(1) Standard 0.20 mg/L; Day 0

分析日時: 98/03/18 15:09 作成日時: 98/03/18 16:11
 データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (787666, daphnia)
 777 サンプル: 123-TC8 (787666, daphnia) サンプル名: 0005
 A-178: 12 サンプル名: 0.2 mg/L St. Od
 A-178/17: UNK 注入量: 300.0 ul
 注入回数: 1 サンプル注量:

サマリー: HPLC サンプル: 1



データ収集用分析ファイル: 123-TC8 (787666, daphnia)
 サンプル名: Inertsil ODS-3V
 サンプル A (メイン): L-7100
 溶離液A: 70% ACN
 サンプル B (補助): L-7100
 溶離液A: 30% Water
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.

作成者:

データ定量: 面積

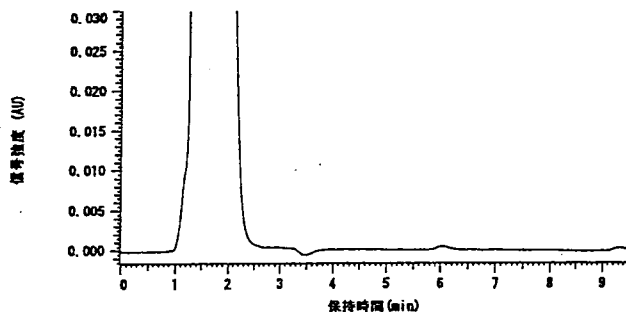
定量計算方法: 面積%

NO	保持時間	面積	面積%	BC
1	8.02	96252	100.000	MC
		96252	100.000	

(2) Solvent control ; Day 0 (new)

分析日時: 98/03/18 14:09 作成日時: 98/03/18 16:16
 データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (787666, daphnia)
 777 サンプル: 123-TC8 (787666, daphnia) サンプル名: 0005
 A-178: 2 サンプル名: Sol. Control, Od, New
 A-178/17: UNK 注入量: 300.0 ul
 注入回数: 1 サンプル注量:

サマリー: HPLC サンプル: 1



データ収集用分析ファイル: 123-TC8 (787666, daphnia)
 サンプル名: Inertsil ODS-3V
 サンプル A (メイン): L-7100
 溶離液A: 70% ACN
 サンプル B (補助): L-7100
 溶離液A: 30% Water
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.

作成者:

データ定量: 面積

定量計算方法: 面積%

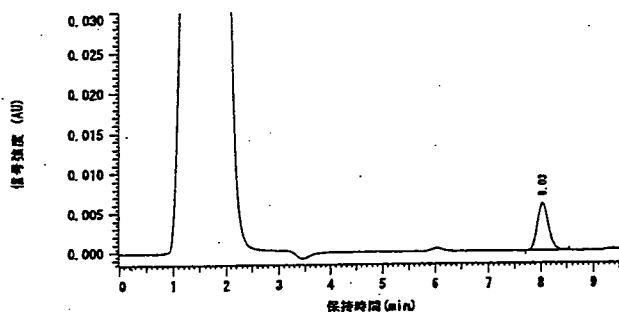
NO	保持時間	面積	面積%	BC
		0	0.000	

Figure A-2-2 Continued

(3) 0.10 mg/L nominal; Day 0 (new)

分析日時: 98/03/18 14:57 作成日時: 98/03/18 16:11
 データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (78766G, daphnia)
 ファイル名: 123-TC8 (78766G, daphnia) ジョブ名: 0005
 サンプル: 5 サンプル名: Conc. 3, Od, New
 注入量: 300.0 ul
 注入回数: 1

加圧タイプ: HPLC チャンセル: 1



データ収集用分析ファイル: 123-TC8 (78766G, daphnia)
 試薬名: Inertsil ODS-3V 作成者:
 カラム A (メイン): L-7100
 溶剤 A: 70% ACN
 カラム B (補助): L-7100
 溶剤 B: 30% Water
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.

ピーク定量: 面積

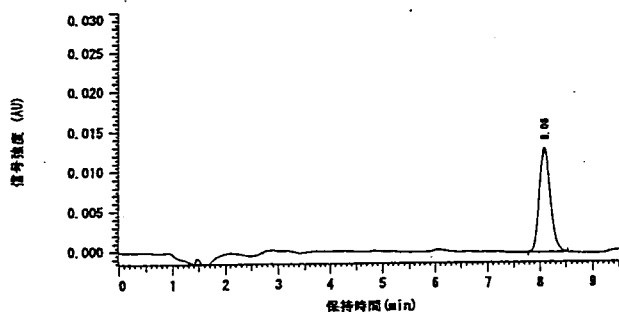
定量計算方法: 面積%

NO	保持時間	面積	面積%	BC
1	8.03	43097	100.000	MC
		43097	100.000	

(4) Standard 0.20 mg/L; Day 2

分析日時: 98/03/20 16:26 作成日時: 98/03/20 17:13
 データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (78766G, daphnia)
 ファイル名: 123-TC8 (78766G, daphnia) ジョブ名: 0009
 サンプル: 11 サンプル名: 0.2 mg/L St. 2d
 注入量: 300.0 ul
 注入回数: 1

加圧タイプ: HPLC チャンセル: 1



データ収集用分析ファイル: 123-TC8 (78766G, daphnia)
 試薬名: Inertsil ODS-3V 作成者:
 カラム A (メイン): L-7100
 溶剤 A: 70% ACN
 カラム B (補助): L-7100
 溶剤 B: 30% Water
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.

ピーク定量: 面積

定量計算方法: 面積%

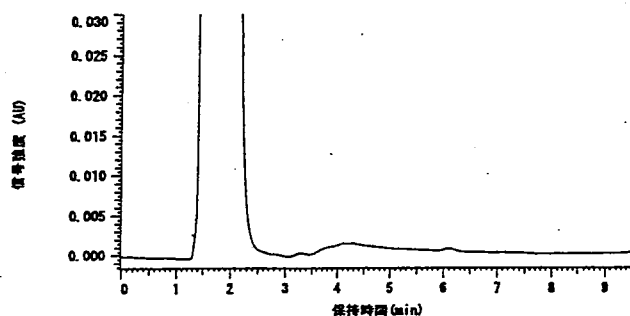
NO	保持時間	面積	面積%	BC
1	8.08	92208	100.000	MC
		92208	100.000	

Figure A-2-2Continued

(5) Solvent control ; Day 2 (old)

分析日時: 98/03/20 15:38 作成日時: 98/03/20 17:17
 テーブル処理用分析ファイル: 123-TC8 (787666, daphnia)
 777 番号: 123-TC8 (787666, daphnia) シー: 0009
 A: 777: 2 シー: Sol. Control, 2d, Old
 A: 777: UNK 注入量: 300.0 ul
 注入回数: 1 シー: 10000

カラム: HPLC シー: 1



データ取得用分析ファイル: 123-TC8 (787666, daphnia)
 シー: Inertsil ODS-3V 作成者: XXXXXXXXXX
 シー: A (777): L-7100
 溶剤: 70% ACN
 シー: B (補助): L-7100
 溶剤: 30% Water
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.

ピーク定量: 面積

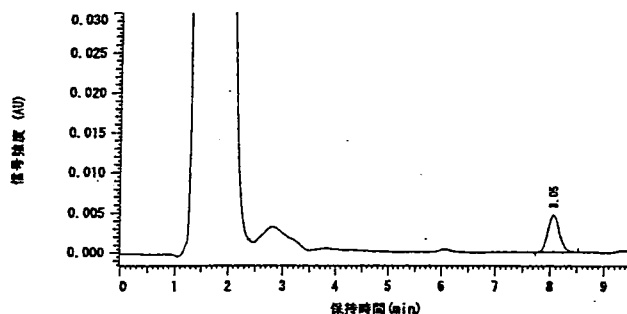
定量計算方法: 面積%

NO	保持時間	面積	面積%	BC
	0	0.000		

(6) 0.10 mg/L nominal; Day 2 (old)

分析日時: 98/03/20 16:14 作成日時: 98/03/20 17:14
 テーブル処理用分析ファイル: 123-TC8 (787666, daphnia)
 777 番号: 123-TC8 (787666, daphnia) シー: 0009
 A: 777: 5 シー: Conc. 3, 2d, Old
 A: 777: UNK 注入量: 300.0 ul
 注入回数: 1 シー: 10000

カラム: HPLC シー: 1



データ取得用分析ファイル: 123-TC8 (787666, daphnia)
 シー: Inertsil ODS-3V 作成者: XXXXXXXXXX
 シー: A (777): L-7100
 溶剤: 70% ACN
 シー: B (補助): L-7100
 溶剤: 30% Water
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.

ピーク定量: 面積

定量計算方法: 面積%

NO	保持時間	面積	面積%	BC
1	8.05	33076	100.000	MC
		33076	100.000	

付属資料－3

ミジンコの観察結果

Appendix 3-1 Result of repropduction test

(Test chemical: 1,2,3-TCB)

(Chemical conc.: 0 mg/L, Dispersant conc.: 0 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																					Total
		3/19	3/20	3/21	3/22	3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d	
1	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							9	0	0	2	0	0	15	0	0	26	1	0	0	23	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	9	9	9	11	11	11	26	26	26	52	53	53	53	76	76	76
2	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							5	2	0	4	0	0	22	0	0	29	0	0	0	20	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	5	7	7	11	11	11	33	33	33	62	62	62	62	82	82	82
3	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							10	0	0	23	0	2	18	0	0	28	0	0	25	1	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	10	10	10	33	33	35	53	53	53	81	81	81	106	107	107	107
4	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							6	0	0	2	0	0	24	0	0	33	0	0	3	20	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	6	6	6	8	8	8	32	32	32	65	65	65	68	88	88	88
5	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							5	0	0	14	0	0	23	0	0	32	0	0	24	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	5	5	5	19	19	19	42	42	42	74	74	74	98	98	98	98
6	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							3	0	0	0	0	0	14	0	0	25	0	0	21	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	3	17	17	17	42	42	42	63	63	63	63
7	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0				
	F1 generation Live							0	7	0	0	0	0	0	15	0	0	2	0				
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7	7	7	22	22	22	24					
8	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							9	0	0	13	0	0	26	0	0	29	0	0	0	24	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	9	9	9	22	22	22	48	48	48	77	77	77	77	101	101	101
9	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							3	0	0	10	0	0	16	0	0	31	0	0	2	18	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	3	3	3	13	13	13	29	29	29	60	60	60	62	80	80	80
10	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							8	0	0	0	0	0	24	0	0	35	0	0	31	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	8	8	8	8	8	8	32	32	32	67	67	67	98	98	98	98

The time (days) to first brood: 1; 7 days, 2; 7 days, 3; 7 days, 4; 7 days, 5; 7 days.
6; 7 days, 7; 8 days, 8; 7 days, 9; 7 days, 10; 7 days.

Appendix 3-2 Result of reproduction test

(Test chemical: 1, 2, 3-TCB)

(Chemical conc.: 0 mg/L, Dispersant conc.: 20 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																					Total
		3/19	3/20	3/21	3/22	3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d	
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							6	0	0	16	0	0	25	0	0	39	0	0	22	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	6	6	6	22	22	22	47	47	47	86	86	86	108	108	108
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							8	0	0	3	0	0	30	0	0	38	0	0	21	1	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	11	11	11	41	41	41	79	79	79	100	101	101
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							5	0	0	2	0	0	29	0	0	38	0	0	11	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	5	5	5	7	7	7	36	36	36	74	74	74	85	85	85
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							5	0	0	11	0	0	23	0	0	37	0	0	19	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	5	5	5	16	16	16	39	39	39	76	76	76	95	95	95
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							11	0	0	14	1	0	31	0	0	34	1	0	23	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	25	26	26	57	57	57	91	92	92	115	115	115
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							1	0	0	21	0	0	26	0	0	33	0	0	22	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	1	1	1	22	22	22	48	48	48	81	81	81	103	103	103
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							8	0	0	5	0	0	28	0	0	35	0	0	22	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	13	13	13	41	41	41	76	76	76	98	98	98
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							6	0	0	13	0	0	31	0	0	39	0	0	5	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	6	6	6	19	19	19	50	50	50	89	89	89	94	94	94
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							4	0	0	21	0	0	29	0	0	37	0	0	24	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	4	4	4	25	25	25	54	54	54	91	91	91	115	115	115
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							8	0	0	10	0	0	28	0	0	34	0	0	26	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	18	18	18	46	46	46	80	80	80	106	106	106

The time (days) to first brood: 1; 7 days, 2; 7 days, 3; 7 days, 4; 7 days, 5; 7 days.
 6; 7 days, 7; 7 days, 8; 7 days, 9; 7 days, 10; 7 days.

Appendix 3-3 Result of reproduction test

(Test chemical: 1,2,3-TCB)

(Chemical conc.: 0.0200 mg/L, Dispersant conc.: 20 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																					Total
		3/19	3/20	3/21	3/22	3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d	
1	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							6	0	0	25	0	0	31	0	0	38	0	0	10	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	6	6	6	31	31	31	62	62	62	100	100	100	110	110	110	110
2	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							1	0	0	11	0	0	28	0	0	35	0	0	13	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	1	1	1	12	12	12	40	40	40	75	75	75	88	88	88	88
3	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							4	0	0	7	0	0	28	0	0	33	0	0	0	35	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	4	4	4	11	11	11	39	39	39	72	72	72	72	107	107	107
4	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							2	0	0	0	0	0	32	0	0	38	0	0	0	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	34	34	34	72	72	72	72	72	72	72
5	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							1	0	0	16	0	0	32	0	0	37	0	0	20	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	1	1	1	17	17	17	49	49	49	86	86	86	106	106	106	106
6	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							1	0	0	15	0	0	28	0	0	35	0	0	7	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	1	1	1	16	16	16	44	44	44	79	79	79	86	86	86	86
7	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							7	0	0	14	0	0	30	0	0	13	0	0	26	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	7	7	7	21	21	21	51	51	51	64	64	64	90	90	90	90
8	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							3	0	0	14	0	0	26	0	0	35	0	0	13	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	3	3	3	17	17	17	43	43	43	78	78	78	91	91	91	91
9	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							1	0	0	7	0	0	28	0	0	33	2	0	18	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	1	1	1	8	8	8	36	36	36	69	71	71	89	89	89	89
10	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation Live							0	3	0	0	19	0	0	30	0	0	29	0	0	21	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	22	22	22	52	52	52	81	81	81	102	102	102

The time (days) to first brood: 1; 7 days, 2; 7 days, 3; 7 days, 4; 7 days, 5; 7 days.
6; 7 days, 7; 7 days, 8; 7 days, 9; 7 days, 10; 8 days.

Appendix 3-4 Result of reproduction test

(Test chemical: 1,2,3-TCB)

(Chemical conc.: 0.0450 mg/L, Dispersant conc.: 20 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																					Total
		3/19 1 d	3/20 2 d	3/21 3 d	3/22 4 d	3/23 5 d	3/24 6 d	3/25 7 d	3/26 8 d	3/27 9 d	3/28 10 d	3/29 11 d	3/30 12 d	3/31 13 d	4/1 14 d	4/2 15 d	4/3 16 d	4/4 17 d	4/5 18 d	4/6 19 d	4/7 20 d	4/8 21 d	
1	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	102
	F1 generation Live							1	0	0	21	0	0	24	0	0	39	0	0	17	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	1	1	1	22	22	22	46	46	46	85	85	85	102	102	102	
2	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	126
	F1 generation Live							0	4	0	16	4	0	37	0	0	35	0	0	5	25	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	4	4	20	24	24	61	61	61	96	96	96	101	126	126	
3	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	104
	F1 generation Live							1	0	0	17	0	0	29	0	0	40	0	0	17	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	1	1	1	18	18	18	47	47	47	87	87	87	104	104	104	
4	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	114
	F1 generation Live							6	0	0	16	2	0	32	0	0	40	0	0	18	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	6	6	6	22	24	24	56	56	56	96	96	96	114	114	114	
5	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	119
	F1 generation Live							4	2	0	19	1	0	34	0	0	36	0	0	0	23	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	4	6	6	25	26	26	60	60	60	96	96	96	96	119	119	
6	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	119
	F1 generation Live							9	0	0	29	0	0	29	0	0	31	0	0	0	21	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	9	9	9	38	38	38	67	67	67	98	98	98	98	119	119	
7	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	104
	F1 generation Live							5	0	0	29	0	0	29	0	0	38	0	0	3	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	5	5	5	34	34	34	63	63	63	101	101	101	104	104	104	
8	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	91
	F1 generation Live							0	0	0	2	1	0	31	0	0	43	0	0	14	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	3	34	34	34	77	77	77	91	91	91	
9	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	116
	F1 generation Live							9	0	0	12	3	1	32	0	0	43	0	0	16	0	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	9	9	9	21	24	25	57	57	57	100	100	100	116	116	116	
10	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	116
	F1 generation Live							0	5	0	19	0	0	31	0	0	33	0	0	0	28	0	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	5	5	24	24	24	55	55	55	88	88	88	88	116	116	

The time (days) to first brood: 1: 7 days, 2: 8 days, 3: 7 days, 4: 7 days, 5: 7 days.
6: 7 days, 7: 7 days, 8: 10 days, 9: 7 days, 10: 8 days.

Appendix 3-5 Result of reproduction test

(Test chemical: 1,2,3-TCB)

(Chemical conc.: 0.100 mg/L, Dispersant conc.: 20 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																					Total
		3/19	3/20	3/21	3/22	3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d	
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							8	0	0	35	1	0	26	0	0	31	0	0	0	8	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	43	44	44	70	70	70	101	101	101	101	109	109
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							5	0	0	22	0	0	28	0	0	36	0	0	1	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	5	5	5	27	27	27	55	55	55	91	91	91	92	92	92
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							7	0	0	18	0	0	35	0	0	40	0	0	8	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	7	7	7	25	25	25	60	60	60	100	100	100	108	108	108
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							0	4	0	1	25	1	38	0	0	34	0	0	0	22	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	4	4	5	30	31	69	69	69	103	103	103	103	125	125
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							10	0	0	15	0	0	37	0	0	48	0	0	3	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	25	25	25	62	62	62	110	110	110	113	113	113
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							4	0	0	23	0	0	30	0	0	34	0	0	5	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	4	4	4	27	27	27	57	57	57	91	91	91	96	96	96
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							6	0	0	25	0	0	30	0	0	35	0	0	14	4	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	6	6	6	31	31	31	61	61	61	96	96	96	110	114	114
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							3	0	0	30	0	0	32	0	0	38	0	0	11	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	3	3	3	33	33	33	65	65	65	103	103	103	114	114	114
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							2	0	0	22	0	0	30	0	0	37	0	0	6	3	1
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	2	2	2	24	24	24	54	54	54	91	91	91	97	100	101
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							6	0	0	29	0	0	35	0	0	35	0	0	5	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	6	6	6	35	35	35	70	70	70	105	105	105	110	110	110

The time (days) to first brood: 1: 7 days, 2: 7 days, 3: 7 days, 4: 8 days, 5: 7 days.
6: 7 days, 7: 7 days, 8: 7 days, 9: 7 days, 10: 7 days.

Appendix 3-6 Result of repropduction test

(Test chemical: 1, 2, 3-TCB)

(Chemical conc.: 0.220 mg/L, Dispersant conc.: 20 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																					Total
		3/19	3/20	3/21	3/22	3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d	
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							4	0	0	12	0	0	33	0	0	33	0	0	0	1	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	4	4	4	16	16	16	49	49	49	82	82	82	82	83	83
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							9	0	0	27	0	0	32	0	0	36	0	0	13	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	9	9	9	36	36	36	68	68	68	104	104	104	117	117	117
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							7	0	0	18	1	0	33	0	0	37	0	0	6	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	7	7	7	25	26	26	59	59	59	96	96	96	102	102	102
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							4	0	0	15	1	0	38	0	0	36	0	0	5	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	4	4	4	19	20	20	58	58	58	94	94	94	99	99	99
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							7	0	0	25	0	0	29	0	0	38	0	0	10	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	7	7	7	32	32	32	61	61	61	99	99	99	109	109	109
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							0	5	0	35	0	0	36	0	0	38	0	0	0	16	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	5	5	40	40	40	76	76	76	114	114	114	114	130	130
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							0	6	0	13	10	0	0	31	0	0	30	0	0	23	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	6	6	19	29	29	29	60	60	60	90	90	90	113	113
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							0	0	0	6	0	0	26	0	0	35	0	0	11	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	32	32	32	67	67	67	78	78	78
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							6	0	0	17	0	0	33	0	0	35	0	0	7	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	6	6	6	23	23	23	56	56	56	91	91	91	98	98	98
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							0	3	0	27	0	0	32	0	0	30	0	0	0	27	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	3	3	30	30	30	62	62	62	92	92	92	92	119	119

The time (days) to first brood: 1: 7 days, 2: 7 days, 3: 7 days, 4: 7 days, 5: 7 days.
6: 8 days, 7: 8 days, 8: 10 days, 9: 7 days, 10: 8 days.

Appendix 3-7 Result of reprodution test

(Test chemical: 1, 2, 3-TCB)

(Chemical conc.: 0.500 mg/L,

Dispersant conc.: 20 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																					Total
		3/19	3/20	3/21	3/22	3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d	
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0							
	F1 generation	Live							0	0	9	0	0	12	0	2							
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	21	21								
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0		
	F1 generation	Live							0	4	0	0	12	0	0	13	0	6	19	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	16	16	16	29	29	35	54	54			
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0		
	F1 generation	Live							0	5	0	0	16	0	0	17	0	0	23	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	21	21	21	38	38	38	61	61			
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0							
	F1 generation	Live							0	7	0	0	11	0	0	21							
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	18	18	18								
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0					
	F1 generation	Live							0	4	0	18	0	3	9	18	0	9					
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	4	4	22	22	25	34	52	52						
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0							
	F1 generation	Live							0	3	0	0	13	1	0	31	0						
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	16	17	17	48							
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0							
	F1 generation	Live							0	3	0	1	11	0	0	20							
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	3	3	4	15	15	15								
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							0	0	0	18	0	0	15	0	0	12	0	0	14	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	18	18	33	33	33	45	45	45	59	59	59
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0							
	F1 generation	Live							0	8	0	0	13	0	0	19							
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	21	21	21								
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0			
	F1 generation	Live							0	6	0	0	16	0	0	22	0	0	20	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	22	22	22	44	44	44	64	64			

The time (days) to first brood: 1; 9 days, 2; 8 days, 3; 8 days, 4; 8 days, 5; 8 days.
6; 8 days, 7; 8 days, 8; 10 days, 9; 8 days, 10; 8 days.